Ein Beitrag

zur Bestimmung

der

Alkalescenz des Blutes.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

k. Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt

von

Fritz Glatzel

aus Posen.

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1895.

Erlangen.

K. b. Hof- u. Univ.-Buchdruckerei von Fr. Junge (Junge & Sohn).

1896.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät Erlangen.

Referent: Herr Prof. Dr. Rosenthal.

Seinen lieben Eltern

in steter Dankbarkeit

gewidmet

vom Verfasser.

Das in den Gefässen strömende oder frisch aus dem Körper entnommene Blut reagiert alkalisch. Je weniger diese Thatsache gegenwärtig von irgend einer Seite in Zweifel gezogen wird, umsomehr gehen die Anschauungen über die wahre Grösse der Alkalescenz des Blutes auseinander.

Die Gründe für diese Differenzen bei einer den Kliniker, wie den Physiologen und Pathologen in gleichem Grade interessierenden Frage werden sich am besten an der Hand einer Geschichte der Blutalkalimetrie darthun lassen, sofern eine solche historische Betrachtung mit der blossen Angabe der einzelnen Methoden eine eingehende Kritik derselben verbindet.

Da eine derartige historisch-kritische Übersicht über die ganze Entwicklung der Blutalkalimetrie ein gewisses Interesse darbietet, so soll dem experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit ein ganz kurzer Abriss dieser Untersuchungsmethoden vorausgeschickt werden. Ich kann mich dabei um so kürzer fassen, als ich demnächst eine ausführliche Geschichte dieser Materie an anderer Stelle veröffentlichen werde, und will deshalb nur die allerwichtigsten Methoden kurz anführen.

Sieht man von einigen Bluttitrationen mittels Phosphorsäure ab, die von einem Franzosen, Dr. Cahen fils, ausgeführt wurden, so muss an erster Stelle das Verfahren von Kühne [1]) genannt werden, welcher Blut gegen Wasser dialysieren liess und die Reaktion des farblosen Filtrates

1) Kühne, Archiv f. pathol. Anat. u. Physiol. XXXIII.

prüfte. Der Fehler, der sich hierbei notwendigerweise einstellen musste, indem ein grosser Teil des Blutalkalis nicht mit in das Dialysat überging, liess die Methode zu einer genauen Alkalescenzbestimmung ungenügend erscheinen. Man suchte deshalb nach Verbesserungen und glaubte, solche auch in den bekannten Verfahren von Zuntz[1]) und Liebreich[2]) gefunden zu haben. Es stellte sich jedoch heraus, dass man es auch hier nur mit fast rein qualitativen Untersuchungsmethoden zu thun hatte, die über die Quantität des im Blute enthaltenen Alkalis nur ungenügende Auskunft gaben.

In der Folgezeit wurden nun eine grosse Zahl von Methoden veröffentlicht, die eine möglichst genaue Bestimmung des Blutalkalis bezweckten. Man thut gut, sich der besseren Übersicht wegen an eine bestimmte Einteilung zu halten; wir wollen hier, was von verschiedenen Seiten empfohlen worden ist, hämoalkalimetrische, hämoacidimetrische und gasometrische Methoden unterscheiden.

Zu den alkalimetrischen gehören in erster Linie die Methoden von P. Lassar, Landois und v. Jaksch. Gerade diese sind aber so oft besprochen worden und deswegen hinreichend bekannt, dass auf eine abermalige Wiedergabe an dieser Stelle verzichtet werden kann. Dafür mögen einige andere, weniger bekannte Alkalescenzbestimmungen hier kurz Erwähnung finden, nämlich die von Kraus[3]), Loewy[4]) und Schultz-Schultzenstein.

Kraus versetzte das Blut mit dem vierfachen Volumen konzentrierter neutraler Ammoniumsulfatlösung, filtrierte so rasch als möglich und titrierte das farblose Filtrat. Da es

---

1) Zuntz: Zentralblatt f. d. med. Wissensch. Bd. 5. 1867.

2) Liebreich: Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. I. S. 48 ff.

3) Kraus: Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. XXVI. und Zeitschr. für Heilkunde. Bd. X.

4) Loewy: Pflüger's Zeitschr. f. Physiol. Bd. 58.

bei diesem Modus des Arbeitens von vornherein unwahrscheinlich war, dass alles Alkali sich im Filtrat wiederfände, so bürgerte sich diese, sowie auch eine zweite von demselben Autor angegebene Methode nicht ein.

Bei seinem zweiten Verfahren verdünnte Kraus das Blut mit dem Neunfachen einer 1 % Kochsalzlösung, liess es 24 Stunden bei der Temperatur des thauenden Eises stehen und titrierte dann das abgeschiedene klare Serum.

Auf die Mängel dieser beiden Methoden hat zuerst A. Loewy aufmerksam gemacht und dann selbst eine neue Art, die Alkalescenz zu bestimmen, angegeben.

Er liess Blut in die neunfache Menge einer 0,2 % Lösung von oxalsaurem Ammon einfliessen und verwandelte so deckfarbenes Blut in lackfarbenes. Dieses unterwarf er dann unter Benutzung von Lakmus als Indikator der Titration, welche ganz genaue Resultate ergeben soll. Die Gründe, die Loewy zur Benutzung lackfarbenen Blutes veranlassten, hier darzulegen würde zu weit führen; ich muss mich begnügen, auf die in Pflüger's Archiv Bd. 58 erschienene Arbeit von Loewy zu verweisen.

In neuester Zeit ist nun noch eine der Erwähnung werte Arbeit erschienen, die von Schultz-Schultzenstein [1]). Derselbe verwendet 7,5 mg Blut, verdünnt es auf 12 ccm mit destilliertem Wasser, fügt 1,5 ccm $^1/_{600}$ Normal-Schwefelsäure hinzu und titriert mit $^1/_{600}$ Normal-Natronlauge den Säureüberschuss zurück.

Um nur einigermassen vollständig zu sein, nennen wir hier noch die Namen einiger Autoren, die ebenfalls alkalimetrische Methoden angegeben haben, so Freudberg, Drouin, Lehmann und Hamburger.

Die gasometrischen Verfahren, die wir an zweiter Stelle

---

1) Schultz-Schultzenstein. Dissert. Göttingen 1895.

erwähnen wollen, sind bei weitem nicht so zahlreich als die alkalimetrischen. Es existieren nur drei, die von Walter[1]), Kraus[2]) und v. Noorden[3]). Gleichwohl müssen wir es uns versagen, eine eingehende Schilderung derselben zu geben, da diese, falls sie nur einigermassen ausführlich sein sollte, einen viel zu grossen Raum einnehmen würde.

Wir wenden uns deshalb gleich den sogen. hämoacidimetrischen Methoden zu. Es sind deren nur zwei zu erwähnen. Die erste ist von Maly[4]) ausgearbeitet worden. Maly führt zuerst alle Phosphor- und Kohlensäure durch eine verdünnte Lauge in neutrale Phosphate und Karbonate über, fällt diese durch Baryumchlorid aus und filtriert dann. Bei der darauffolgenden Titration ergiebt sich nun, dass das Blut sauer reagiert, wie es Maly bereits auf Grund theoretischer Überlegungen angenommen hatte.

Die zweite hämoacidimetrische Methode hat Kraus (l. c.) angegeben. Er fällt die Eiweisssubstanzen des Blutes durch eine alkoholische Kaliumacetatlösung, verdünnt das Ganze stark mit Wasser und filtriert, um endlich die Reaktion des Filtrates titrimetrisch zu bestimmen.

Nach diesem kurzen geschichtlichen Überblick wollen wir uns nunmehr der eigentlichen Aufgabe dieser Arbeit zuwenden und uns mit einem neuen Verfahren zur Bestimmung der Blutalkalescenz beschäftigen.

Im Jahre 1894 hat J. Gundlach[5]) im hiesigen physiologischen Institut eine Untersuchung über die Verwendbarkeit von Hühnereiweiss zu Nährböden für bakteriologische Zwecke

1) Walter: Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd VII.
2) Kraus: l. c.
3) v. Noorden: Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. XXVII.
4) Maly: Sitzungsberichte der Kaiserl. Akad. der Wissensch. Bd. 76 Abt. 2, und Bd. 85 Abteil. 3.
5) J. Gundlach, Ueb. die Verwendung von Hühnereiweiss zu Nährböden. Inaug. Diss. Erlangen 1894.

ausgeführt. Im Verlauf dieser Arbeit sah er sich veranlasst, das Verhalten des Hühnereiweisses gegen verdünnte Schwefelsäure und gegen verdünnte Alkalilaugen zu prüfen. Die Ergebnisse, zu denen er auf Grund zahlreicher Versuche kam, fasste er in folgenden Sätzen zusammen.

1. Frisches Hühnereiweiss verhält sich verdünnter Schwefelsäure gegenüber wie ein Alkali; es bindet bei Zimmertemperatur Säure, sowohl wenn die Säure direkt dem Eiweiss zugefügt, als auch wenn eine Mischung von Eiweiss und Natron- oder Kalilauge mit Säure versetzt wird.

2. Wird Eiweiss mit verdünnter Schwefelsäure auf 100° C. erhitzt, so hält das Eiweiss einen Teil der Säure so fest, dass er ihm durch Alkali nicht entzogen werden kann. (Bildung von Acidalbumin).

3. Fügt man zu einer Mischung von Eiweiss und Alkalilauge bei Zimmertemperatur verdünnte Schwefelsäure, so wird das Alkali sogleich vollständig an die Säure gebunden.

4. Erhitzt man Eiweiss mit Alkalilauge auf 100° C., so entsteht ein Alkalialbuminat, dem das Alkali durch verdünnte Schwefelsäure bei Zimmertemperatur nur zum Teil, bei Siedehitze aber vollständig entzogen werden kann.

Diese Ergebnisse legten es nahe, auch das Bluteiweiss, das bei der Blutalkalimetrie eine sehr wichtige Rolle zu spielen scheint, in ähnlicher Weise auf sein Verhalten zu Säuren und Alkalien zu prüfen.

Es wurden zunächst einige Vorversuche angestellt, die den Zweck hatten, eine Entscheidung über die Brauchbarkeit von Lakmus und Phenolphtalein als Indikatoren bei den vorzunehmenden Titrationen herbeizuführen.

Es zeigte sich bald, dass bei reinen Säuren und Laugen — es wurde mit Normal- und $^1/_{10}$ Normal-Lösungen gearbeitet — ein Unterschied in dem prompten Auftreten des Farbenumschlages nicht zu konstatieren war; trotzdem aber

wurde für die folgenden Untersuchungen Phenolphtaleïn bevorzugt, weil der Übergang von Rot in Farblos oder umgekehrt viel exakter zu beobachten war als der von Rot in Blau bezw. Blau in Rot, wie er bei Lakmus eintreten soll.

Noch eine andere Frage aber war zu entscheiden. Da nach Maly's Untersuchungen die Alkalescenz des Blutes im wesentlichen durch Natriumbikarbonat und Dinatriumphosphat bedingt ist, so musste weiterhin ermittelt werden, wie sich Phenolphtaleïn und Lakmus diesen beiden Salzen gegenüber verhielten. Bei der Titration von Natriumbikarbonat mit Normalschwefelsäure stellte sich nun in der That ein Unterschied zwischen beiden Indikatoren heraus, der durch das Freiwerden von Kohlensäure, die auf Lakmus garnicht, auf Phenolphtaleïn dagegen stark einwirkt, veranlasst wurde, der jedoch leicht durch Erhitzen der zu titrierenden Flüssigkeit beseitigt werden konnte, weil hierbei die in Freiheit gesetzte Kohlensäure verjagt wurde. Eine ebenfalls nicht unbedeutende Differenz ergab sich beim Titrieren von Dinatriumphosphat, nur mit dem Unterschied, dass hier Erhitzen ohne jeden Einfluss auf das Resultat der Titration blieb. Titrierte man z. B. 10 ccm einer Dinatriumphosphatlösung, so brauchte man bis zum Auftreten der neutralen Reaktion 0,05 ccm oder einen Tropfen einer Normalschwefelsäure, wenn man Phenolphtaleïn benutzte, dagegen weit mehr Säure, wenn Lakmus als Indikator diente. Es erwies sich daher Dinatriumphosphat Lakmus gegenüber als viel stärker alkalisch wie gegen Phenolphtaleïn. Diese Differenz wurde, wie schon bemerkt, durch Erhitzen nicht ausgeglichen.

Beim Nachschlagen der Litteratur fand ich, dass Hamburger in seiner Arbeit über den Einfluss von Säure und Alkali auf defibriniertes Blut bei Besprechung der Alkalescenzbestimmung beim Serum dieser Thatsachen Erwähnung thut. Er sagt dort, es sei keineswegs indifferent,

welchen Farbstoff man als Indikator gebrauche; der eine würde eine Lösung schon für neutral erklären, welche durch einen anderen noch als alkalisch angegeben werde. So reagiere z. B. Dinatriumphosphat neutral gegenüber Phenolphtaleïn, aber stark alkalisch gegen Lakmoid.

Auch Drouin sagt, auf Grund der Arbeiten von Berthelot und Longuinine sowie der von Joly müsse man annehmen, dass die zweibasischen Salze der Phosphorsäure sich gegen Phenolphtaleïn neutral, gegen Lakmus aber stark alkalisch verhielten. Wie man sieht, stimmen die Resultate der Arbeiten Hamburger's und der französischen Autoren nicht ganz mit denen überein, die aus den obenangestellten Versuchen gewonnen wurden; aber wie dem auch sei, soviel ist klar, dass beide Indikatoren einander nicht in allen Fällen vertreten können. Der Grund hierfür liegt bei den Alkalikarbonaten in der Unempfindlichkeit des Lakmus gegen Kohlensäure in freiem Zustande.

Erwähnt sei an dieser Stelle nochmals die wichtige Thatsache, auf welche zuerst Maly aufmerksam gemacht hat, dass ein Teil der im Blute vorhandenen kohlen- und phosphorsauren Salze als theoretisch saure Salze aufgefasst werden müssen trotz ihrer lakmusbläuenden Eigenschaft. Das Natriumbikarbonat $CO\begin{matrix}OH\\ONa\end{matrix}$ und das Dinatriumphosphat $PO\begin{matrix}OH\\ONa\\ONa\end{matrix}$ enthalten noch ein Wasserstoffatom und sind daher im stande, Basen zu binden, sogar aus anderen Salzen unter Bindung des Metalls dieser Salze Säuren frei zu machen.

Nach Erledigung dieser Vorfragen kam es darauf an, eine Methode zu finden, die es gestattete, das Bluteiweiss vollkommen zu isolieren. Ganz besonders dazu geeignet

1) Fr. Heubach, Über Infusionen von Paal'schem Glutinpepton in die Blutbahn. Inaug. Diss. Erlangen 1893.

schien ein von Fr. Heubach[1]) oft benutztes Verfahren zur Blutenteiweissung zu sein, das bei einer gleichfalls im hiesigen physiologischen Institut ausgeführten Arbeit mit Vorteil für den Nachweis des Peptons im Blut verwertet wurde. Heubach, der einen grossen Teil der zahlreichen Enteiweissungsmethoden durchgeprüft und in seiner Inauguraldissertation eine eingehende Darstellung derselben gegeben hat, kam endlich zu folgendem Verfahren[1]): „Das betreffende Blutquantum wurde unter allmählichem Zusatz des gleichen Volumens 1,5 % alkoholischer Chlorzinklösung, welche, wie die Devoto'sche Zinkacetatlösung, stets etwas durch flockige Ausscheidungen getrübt war, in einem Schüttelgefäss stark geschüttelt. Dabei gerann das Eiweiss in ganz kleinen Partikelchen, sodass die ganze Masse völlig dünnflüssig blieb. Die rote Farbe des Blutes wandelte sich in eine dunkelgraubraune um. Von diesem Koagulum wurde die Flüssigkeit an der Wasserstrahlpumpe abgesogen. Das Filtrat stellte eine völlig wasserklare Flüssigkeit ohne jede Spur von Färbung dar".

Dieses Enteiweissungsverfahren bot für die folgenden Untersuchungen zwei Vorzüge: einmal ist das auf dem Filter zurückbleibende Koagulum von krümeliger, körniger Beschaffenheit und daher schneller und sicherer auszuwaschen, als wenn die ganze Eiweissfällung eine schleimige Konsistenz behält, ein Übelstand, der sich leicht einstellt, wenn man die alkoholische Chlorzinklösung in zu schwacher Konzentration anwendet. Zweitens aber war das Filtrat ziemlich klar und höchstens leicht gelblich gefärbt, was übrigens von der Güte des gebrauchten Filtrierpapiers abhängt, sodass Heubach ohne weiteres sagt, die abfiltrierende Flüssigkeit

1) Vor Heubach hat bereits Abeles alkoholische Lösungen von Zinksalzen zur Enteiweissung des Blutes verwendet. Vgl. Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. XV. S. 495.

zeige keine Spur von Färbung. Das Filtrat war demnach zur Prüfung mit Phenolphtaleïn ausserordentlich gut geeignet.

Von der Vermutung ausgehend, dass die Abeles'sche bezw. Heubach'sche Blutenteiweissungsmethode die Alkalescenzbestimmung nicht nur im physiologischen Laboratorium, sondern vielleicht auch in der Klinik ermöglichen könne, habe ich eine ganze Reihe von Versuchen angestellt, welche die Brauchbarkeit des Verfahrens zu alkalimetrischen Zwecken erweisen sollten.

Ehe wir jedoch auf eine Besprechung dieser Versuche eingehen, sollen noch einige ganz kurze Vorbemerkungen über das verarbeitete Blut Platz finden. Bei diesen und allen späteren Versuchen wurde das erforderliche Blut stets aus dem hiesigen Schlachthofe bezogen. Es war jedoch nicht möglich, das Blut sofort nach dem Ausströmen aus der Wunde zu verarbeiten. Bisweilen waren die Blutproben schon mehrere Stunden alt, waren zur besseren Konservierung mit Kochsalz versetzt oder auch geschlagen worden, kurz es waren mit ihnen mancherlei Manipulationen vorgenommen worden, deren Wirkung sich später nicht mehr genau bestimmen liess. Auch das Blut, das direkt beim Ausfliessen aus der Ader in einem Gefäss aufgefangen wurde, und das später schlechtweg als frisches Blut bezeichnet wird, wurde immer eine halbe bis eine ganze Stunde alt, ehe es zur Verarbeitung gelangen konnte, sodass sich seine Alkalescenz wesentlich geändert haben mochte. Da es aber vorläufig gar nicht darauf ankam, absolute Werte für die Alkalescenz des Blutes, sei es nun Rinder- oder Schweineblut zu erhalten, sondern da ich zunächst nur die Brauchbarkeit einer Methode für die Blutanalyse prüfen wollte, so war es ganz belanglos, ob das Blut frisch, ob es defibriniert oder gesalzen war oder nicht.

Es ist bei den folgenden Versuchen immer angegeben,

wie viel Zeit seit der Entleerung des Blutes aus den Gefässen schon vergangen war, und welche Versuche mit einem und demselben Blute angestellt wurden und daher als zusammengehörig betrachtet und unter einander verglichen werden können. Ausserdem ist auch noch eine genaue Angabe über den Titer einer jeden frischen Chlorzinklösung gemacht. Chlorzink, theoretisch ein neutrales Salz, hat dem Phenolphtaleïn gegenüber eine deutlich sauere Reaktion. Weil nun die 1,5 % alkoholische Chlorzinklösung nicht immer genau gleich stark ausfiel und auch nicht auszufallen brauchte, so wurde stets, wenn eine neue Lösung zur Anwendung kam, ermittelt, wie viel Kubikzentimeter der Chlorzinklösung 10 ccm der $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge entsprechen. Im übrigen waren die Differenzen zwischen den einzelnen frisch bereiteten Lösungen nicht sehr bedeutend; im äussersten Falle handelte es sich um einen Unterschied von 0,5 ccm $^1/_{10}$ Normal-Lauge.

Die ersten Versuche wurden mit einer Menge von 50 ccm Blut und dem gleichen Quantum der 1,5 % alkoholischen Chlorzinklösung angestellt. Ich verfuhr hierbei ganz, wie es Heubach angegeben, doch wurde, nachdem die Filtration beendet war, nochmals destilliertes Wasser aufgegossen und so der Filterrückstand ausgewaschen; denn ich konnte nicht annehmen, dass das gesamte Alkali der Blutzellen, das in das Filtrat übertreten sollte, gleich beim ersten Filtrieren mit durch das Filter gegangen sei, zumal das körnig ausgefällte Eiweiss sich am Grunde des Filters ziemlich fest zusammenballte und sich nicht ganz leicht auswaschen liess, wenn auch bedeutend leichter, als wenn es sich um eine schleimige gallertige Fällung gehandelt hätte. Nachdem die Flüssigkeit auch das zweite Mal abgesaugt war, wurde das ganze Filtrat mit einigen Tropfen Phenolphtaleïn versetzt und mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge titriert. Es war von vornherein klar, dass die Flüssigkeit weniger Lauge zur Neutralisation

gebrauchen würde als das Chlorzink für sich allein, für den Fall, dass das Blut alkalisch, dagegen ebensoviel Lauge wie das Chlorzink, wenn das Blut neutral wäre, und endlich mehr Lauge, falls man es mit saurem Blut zu thun hatte. Im ersten der angestellten Versuche waren zur Neutralisation des Filtrats 32,0 ccm $^1/_{10}$ Normal-Lauge nötig, während, wie vorher ermittelt war, 10 ccm der angewandten Chlorzinklösung durch 20 ccm $^1/_{10}$ Normallauge „neutralisiert" wurden. Das Blut war also alkalisch, die saure Reaktion des Chlorzinks war zum Teil durch die alkalisch reagierenden Substanzen des Blutes beseitigt worden, und man konnte durch eine einfache Rechnung die Grösse seiner Alkalescenz feststellen, oder angeben, wieviel Kubikzentimeter der in Gestalt von Chlorzink hinzugefügten „Säure" durch die 50 ccm Blut neutralisiert worden waren. Da in unserem Falle 20 ccm $^1/_{10}$ Normallauge genau 10 ccm Chlorzinklösung neutralisierten, so brauchten 50 ccm der letzteren Lösung 100 ccm $^1/_{10}$ Normallauge. Das Filtrat verlangte zu seiner Neutralisation aber nur 32,0 ccm $^1/_{10}$ Normallauge, mithin sind durch die 50 ccm Blut 68 ccm $^1/_{10}$ Normallauge ersetzt oder vertreten worden. Es sind daher 100 ccm Blut 136 ccm $^1/_{10}$ Normallauge gleichwertig, oder, anders ausgedrückt, sie entsprechen in ihrer säurebindenden Kraft 136 ccm $^1/_{10}$ Normallauge.

Nun enthalten

1000 ccm	Normal-Natronlauge	40 g	NaHO
1 ccm $^1/_{10}$	„	0,004 g	„
136 ccm $^1/_{10}$	„	0,544 g	„

Demnach entsprechen also 100 ccm Blut in ihrer Alkalescenz 544 mg NaHO. Der zweite Versuch, der mit demselben Blute unter ganz gleichen Bedingungen angestellt wurde, ergab, dass das Filtrat von 50 ccm Blut + 50 ccm Chlorzinklösung zur Neutralisation 34,0 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge erforderten. Rechnet man auch in diesem Fall

den Alkalescenzwert für 100 ccm Blut in Milligrammen Natriumhydrat aus, so findet man: 100 ccm Blut sind in ihrer Wirkung gleich 528 mg NaHO, ein Wert, der nur um 16 mg von dem bei dem ersten Versuch gewonnenen abweicht.

In gleicher Weise wurden nun eine ganze Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate hier mitgeteilt werden sollen.

Versuch 1.

Frisches Blut. Filtration ohne Zuhilfenahme der Wasserstrahlpumpe; dauert 15 Stunden. Koagulum durch wiederholtes Nachgiessen von destilliertem Wasser ausgewaschen. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 20 ccm $^1/_{10}$ Normallauge, bis Phenolphtaleïn eben Rotfärbung zeigt.

Es wurden verarbeitet 10 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung. Das Filtrat braucht 4,4 ccm $^1/_{10}$ Normallauge, mithin sind 10 ccm Blut = 15,6 ccm $^1/_{10}$ „
100 „ „ = 156 „ „ „
d. h. die Alkalescenz entspricht: 0,624 g NaOH.

Versuch 2.

Dasselbe Blut. Behandlung wie in Versuch 1. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 20 ccm $^1/_{10}$ Natronlauge.
Verarbeitet:
10 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat braucht 3,4 ccm $^1/_{10}$ Natronlauge
10 ccm Blut = 16,6 „ „ „ „
100 „ „ = 166 „ „ „ „
d. h. die Alkalescenz entspricht: 0,664 g NaOH.

Versuch 3.

Dasselbe Blut. Behandlung und Blutmenge wie in Versuch 1 und 2.

Filtrat = 4,35 ccm $^1/_{10}$ Normallauge
10 ccm Blut = 15,65 „ „ „
100 „ „ = 156 „ „ „
d. h. die Alkalescenz entspricht: 0,624 g NaOH.

Versuch 4.

12. II. 95. Frisches Blut. Behandlung wie vorher. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,6 ccm $^1/_{10}$ Normallauge. Verarbeitet:

10 ccm Blut + 20 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 28,0 ccm $^1/_{10}$ Normallauge.
10 ccm Blut $2 \cdot 19{,}6 - 28$ = 11,2 ccm Normallauge.
100 „ „ = 112 ccm $^1/_{10}$ Normallauge.
Alkalescenz = 0,448 g NaOH.

Versuch 5.

Dasselbe Blut. Behandlung wie vorher. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,6 ccm $^1/_{10}$ Normallauge. Verarbeitet:

10 ccm Blut + 20 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 27,0 ccm $^1/_{10}$ Normallauge
10 ccm Blut = 12,2 „ „ „
100 „ „ = 122 „ „ „
Alkalescenz = 0,488 g NaOH.

Versuch 6.

Dasselbe Blut. Behandlung wie vorher. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,6 ccm $^1/_{10}$ Normallauge. Verarbeitet:

10 ccm Blut + 20 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 28,0 „ $^1/_{10}$ Normallauge.
10 ccm Blut = 11,2 „ „ „
100 „ „ = 112 „ „ „
Alkalescenz = 0,448 g NaOH.

Versuch 7.

Dasselbe Blut. Behandlung und Blutmenge wie vorher.
10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,6 ccm $^1/_{10}$ Normallauge.

Filtrat = 27,5 ccm $^1/_{10}$ Normal-Lauge.
10 ccm Blut = 11,7 ccm „
100 „ „ = 117 „ „

Alkalescenz = 0,468 g NaOH.

Bei den nun folgenden Versuchen vom 13. II. 95 wurde das Filtrat von 10 ccm Blut + 20 ccm $ZnCl_2$-Lösung teils durch Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe, teils durch einfaches Abfiltrieren gewonnen. In allen den sieben gleich zu erwähnenden Fällen verlangten 10 ccm der alkoholischen $ZnCl_2$-Lösung stets 19,6 ccm der $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge, bis Phenolphtaleïn den Übergang in alkalische Reaktion eben anzeigte. Statt nun aber alle sieben Alkalescenzbestimmungen der Reihe nach aufzuführen, wollen wir hier nur zwei derselben mit ihren Resultaten folgen lassen, da einmal vier und ein anderes Mal drei der angestellten Versuche übereinstimmende Werte ergaben.

Versuch 8.

Blut vom 12. II. 95. Behandlung desselben wie oben angegeben.

Filtrat = 26,0 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge
10 ccm Blut = 13,2 ccm „ „
100 „ „ = 132 „ „ „

Alkalescenz 0,528 g NaOH.

Versuch 9.

Filtrat = 25,0 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
10 ccm Blut = 14,2 „ „ „
100 „ „ = 142 „ „ „

Alkalescenz = 0,568 g NaOH.

Die nächste Versuchsreihe sollte darthun, ob man mit geringeren Mengen Blut zu demselben Ergebnis käme wie mit den bisher verwendeten relativ grossen Mengen. Es wurden stets 5 ccm Blut mit dem doppelten Volum $ZnCl_2$-Lösung versetzt und aufgearbeitet. Der Gleichmässigkeit wegen wurden alle Koagula mit Hilfe der Körting'schen Pumpe abgesaugt, der Schüttelcylinder und die zur Messung des Blutes gebrauchte Pipette jedesmal mit durchschnittlich 40 ccm destillierten Wassers ausgespült und die Filterrückstände nach der ersten Filtration nochmals mit 10 ccm destillierten Wassers ausgewaschen. Die Resultate sind wieder tabellarisch zusammengestellt worden und hierbei nur das bei den einzelnen Versuchen Nichtgemeinsame darin angeführt. Bemerkt sei ausserdem, dass in allen diesen Fällen 10 ccm der alkoholischen $ZnCl_2$-Lösung durch 19,9 ccm $^1/_{10}$ Normal-Lauge „neutralisiert" wurden.

Versuch 10.

14. II. 95. Blut vom 12. II. 95. 5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 15,5 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 4,4 „ „ „
100 „ „ = 88,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,352 g NaOH.

Versuch 11.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 14,5 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge
5 ccm Blut = 5,4 „ „ „
100 „ „ = 108,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,432 g NaOH.

Versuch 12.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 14,9 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge
5 ccm Blut = 5,0 „ „ „
100 „ „ = 100 „ „ „
Alkalescenz = 0,400 g NaOH.

Versuch 13.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 14,75 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut 5,15 „ „ „
100 „ „ 103 „ „ „
Alkalescenz = 0,412 g NaOH.

Versuch 14.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 14,85 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 5,05 „ „ „
100 „ „ = 101,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,404 g NaOH.

Versuch 15.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 15,6 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge
5 ccm Blut = 4,3 „ „ „
100 „ „ = 86,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,344 g NaOH.

Versuch 16.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 15,7 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 4,2 „ „ „
100 „ „ = 84,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,336 g NaOH.

Die 24 Stunden später, teils mit frischem, teils mit dem-

selben Blute angestellten Versuche wurden unter ganz den gleichen Bedingungen ausgeführt, ihre Ergebnisse sollen daher ohne weiteres den vorher mitgeteilten sieben Versuchen angereiht werden, zugleich mit den Resultaten, welche drei zur Kontrolle mit je 50 ccm Blut und 50 ccm $ZnCl_2$-Lösung gemachten Alkalescenzbestimmungen lieferten.

Versuch 17.

Blut vom 12. II. 95. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,9 ccm $^1/_{10}$ Normal-Lauge.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 13,8 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 6,1 „ „ „
100 „ „ = 122,0 „ „ „
Alkalescenz 0,488 g NaOH.

Versuch 18.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 14,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 5,9 „ „ „
100 „ „ = 118,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,472 g NaOH.

Versuch 19.

Pipetten und Schüttelcylinder mit 50 ccm Wasser ausgespült. Koagulum zweimal mit 50 ccm Wasser ausgewaschen.

50 ccm Blut + 50 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 43,1 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
50 ccm Blut = 56,4 „ „ „
100 „ „ = 112,8 „ „ „
Alkalescenz = 0,451 g NaOH.

Versuch 20.

Frisches Blut.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 13,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 6,9 „ „ „
100 „ „ = 138,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,552 g NaOH.

Versuch 21.

5 ccm Blut + 19 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 1,3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 6,9 „ „ „
100 „ „ = 138,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,552 g NaOH.

Versuch 22.

Pipette und Cylinder mit 60 ccm, Rückstand mit 5 ccm Wasser ausgewaschen.

50 ccm Blut + 50 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 49,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
50 ccm Blut = 50,5 „ „ „
100 „ „ = 101,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,404 g NaOH.

Versuch 23.

Pipette und Cylinder mit 75 ccm, Rückstand mit 2 mal 50 ccm Wasser ausgewaschen,

50 ccm Blut + 50 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 48,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
50 ccm Blut = 51,3 „ „ „
100 „ „ = 102,6 „ „ „
Alkalescenz = 0,408 g NaOH.

Schon bei einem flüchtigen Überblick über die ganze Reihe von Versuch 10—23 erkennt man deutlich, dass ziemlich beträchtliche Differenzen in den einzelnen Werten vorhanden sind. So beträgt z. B. der Unterschied zwischen Versuch 11 und 16 fast 100 mg NaOH und zwischen Versuch 21 und 22 sogar 148 mg NaOH.

Worauf diese Unterschiede beruhen, ob sie durch einen Mangel der Methode selbst bedingt sind, oder ob sie durch irgend eine Ungenauigkeit bei der Arbeit hervorgerufen wurden das zu entscheiden ist vorläufig bei einer so kleinen Zahl von vorliegenden Untersuchungen noch nicht möglich. Wir wollen später nach einer geeigneten Erklärung suchen, wenn wir sämtliche bisher angestellten Versuche aufgeführt haben werden. Die Differenzen zwischen den Versuchen 20 und 21 einerseits und 22 und 23 andererseits könnte man sich vielleicht durch die Annahme erklären, der Rückstand der 50 ccm Blut sei im Verhältnis zu dem von 5 ccm Blut viel zu wenig mit destilliertem Wasser ausgewaschen worden und hätte infolgedessen einen Teil des Blutalkali mechanisch zurückgehalten. Dass dies jedoch nicht die eigentliche Ursache für den verschiedenen Ausfall der Resultate sein kann, beweisen folgende zwei Kontrollversuche, die fast ganz gleiche Werte ergeben.

Versuch 24.

Blut 24 Stunden alt. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,8 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 12,7 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 7,1 „ „ „
100 „ „ = 142,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,568 g NaOH.

Versuch 25.

Pipette und Cylinder mit 70 ccm, Rückstand mit 200 ccm Wasser gewaschen.

50 ccm Blut + 50 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 34,5 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
50 ccm Blut = 64,5 „ „ „
100 „ „ = 129,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,516 g NaOH.

Nach den beiden Versuchen 24 und 25 könnte man annehmen, dass das wiederholte Auswaschen des Filterrückstandes mit destilliertem Wasser ohne wesentlichen Einfluss auf das Endergebnis der Alkalescenzbetimmung sei. Die beiden Parallelversuche 26 und 28 lehren, inwieweit diese Annahme zutrifft bezw. irrig ist. — Ich filtrierte zunächst die Chlorzinkblutmischung ohne Wasserstrahlpumpe und titrierte das Filtrat. Dann wusch ich das Koagulum mit c. 100 ccm destillierten Wassers aus, fing das Filtrat gesondert auf und bestimmte nun auch dessen Reaktion. Wäre nun das gesamte Alkali und die durch das Chlorzink repräsentierte Säure gleich bei der ersten Filtration in das Filtrat gelangt, so hätte das zweite Filtrat völlig neutral reagieren müssen. Dass dem aber nicht so war, dass vielmehr das zweite Filtrat noch merklich sauer reagirte, geht aus den beiden nachstehend mitgeteilten Versuchen hervor.

Versuch 26.

Blut 3 Tage alt. Pipette und Cylinder mit 50 ccm, Rückstand mit 50 ccm Wasser ausgewaschen.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 14,7 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 3,9 „ „ „
100 „ „ = 78,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,312 g NaHO.

Versuch 27.

Pipette und Cylinder mit 60 ccm, Rückstand mit 50 ccm Wasser ausgewaschen.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
erstes Filtrat = 14,9 „ $^1/_{10}$ N.-Lösung.
zweites „ = 0,9 „ „ „
5 ccm Blut = 4,0 „ „ „
100 „ „ = 80,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,320 g NaOH.

Wie sollte man aber nun erkennen, ob wirklich alle Säure und alles Alkali aus dem Koagulum ausgewaschen sei? Einen geeigneten Index hiefür glaubte ich in dem Verschwinden der Chlorreaktion beim Filtrat gefunden zu haben. Ich entnahm während des Auswaschens von Zeit zu Zeit eine Probe des Filtrats und prüfte sie unter Zusatz von Salpetersäure mit Silbernitrat. Das Auswaschen wurde nun so lange fortgesetzt, bis das ablaufende Filtrat sich völlig chlorfrei erwies. In dieser Weise verfuhr ich fortan bei sämtlichen folgenden Versuchen. Ausserdem sollte noch eine andere, nicht minder wichtige Frage entschieden werden. Bisher hatte ich stets mit 50, 10 und 5 ccm Blut gearbeitet. Sollte die Methode aber in die Klinik Eingang finden, so war es nicht vorteilhaft, mit relativ so bedeutenden Quantitäten Blut zu arbeiten, wenn man nicht in denselben Fehler, den frühere Autoren gemacht hatten, verfallen wollte. Es wurden deswegen zu den nachstehend mitgeteilten Alkalescenzbestimmungen nur 2, in manchen Fällen sogar nur 1 ccm Blut in Anwendung gebracht, — die wenigen mit grösseren Quantitäten gemachten Versuche, die dazwischen eingestreut sind, dienen lediglich der Kontrolle —, und statt des vorher zur Durchmischung von Blut und Chlorzinklösung gebrauchten Schüttelcylinders wurde ein einfaches, mit einem Stopfen ver-

sehenes Reagensröhrchen benutzt, wodurch gleichzeitig der für klinische Methoden unerlässlichen Bedingung der Einfachheit genügt wurde. Die Kontrollversuche aber sollten zu gleicher Zeit die Zuverlässigkeit der Methode auch bei Anwendung ganz kleiner Blutmengen erweisen; denn je kleiner die Zahl der zur Alkalescenzbestimmung verwendeten Kubikzentimeter Blut ist, um so grösser muss, selbst bei einer nur geringen Ungenauigkeit der Analyse, schlesslich der Fehler der Bestimmung werden durch die Umrechnung des gefundenen Wertes auf 100 ccm Blut.

Schliesslich ersieht man aus den folgenden Versuchen noch, dass die Anwendung oder Nichtanwendung der Körting'schen Pumpe gar keinen Unterschied in den Resultaten bedingt. Nur hat man, falls man mittelst der Pumpe die Flüssigkeit absaugt, den Vorteil, dass die ganze Bestimmung in ungefähr der halben Zeit beendet ist, ein für die klinische Anwendung der Methode sicherlich nicht zu unterschätzenden Vorteil.

In der nachstehend gegebenen Übersicht ist die Bemerkung, dass bis zur Chlorfreiheit ausgewaschen wurde, als selbstverständlich fortgelassen. Da auch durch Benutzung der Pumpe keine anderen Resultate erzielt wurden als bei gewöhnlichem Filtrieren, so ist auch auf dieses Moment nicht erst besonders Rücksicht genommen worden.

Versuch 28.

Blut 5 Tage alt. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 20 ccm Normallauge. Reagensglas mit 30 ccm, Rückstand mit 50 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 30 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 1,0 „ „ „
100 „ „ = 50,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 29.

Reagensglas mit 50 ccm Wasser ausgewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 2,9 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 1,1 „ „ „
100 „ „ = 55,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,220 g NaOH.

Versuch 30.

Reagensglas mit 50 ccm Wasser ausgewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 1,0 „ „ „
100 „ „ = 50 „ „ „
Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 31.

Blut 8 Tage alt. Reagensglas mit 50 ccm, Rückstand mit 2mal 50 ccm Wasser ausgewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 0,8 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 32.

Reagensglas mit 30 ccm, Rückstand zweimal mit 50 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 0,8 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 33.

Pipette und Cylinder mit 140 ccm, Rückstand zweimal mit 50 ccm Wasser gewaschen.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 18,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,0 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 34.

Blut 9 Tage alt.

Reagensglas mit 120 ccm, Rückstand mit 100 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3,6 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 20,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,080 g NaOH.

Versuch 35.

Reagensglas mit 50 ccm, Rückstand mit 110 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3,7 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 0,3 „ „ „
100 „ „ = 15,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,060 g NaOH.

Versuch 36.

Pipette und Cylinder mit 120 ccm, Rückstand zweimal mit 100 ccm Wasser gewaschen.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 19,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.

5 ccm Blut = 1,0 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
100 „ „ = 20,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,080 g NaOH.

Versuch 37.

Frisches Blut.

Pipette und Cylinder mit 120 ccm, Rückstand mit 100 ccm Wasser gewaschen. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,6 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 16,9 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,7 „ „ „
100 „ „ = 54,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,216 g NaOH.

Versuch 38.

Reagensglas mit 120 ccm, Rückstand mit 150 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 2,7 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
Rückstand noch = 0,25 „ „ „
2 ccm Blut = 0,97 „ „ „
100 „ „ = 48,5 „ „ „
Alkalescenz = 0,194 g NaOH.

Versuch 39.

Frisches Blut.

Pipette und Cylinder mit 100 ccm, Rückstand mit 200 ccm Wasser gewaschen.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 17,6 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,0 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 40.

Reagensglas mit 120 ccm, Rückstand mit ca. 100 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 0,92 „ „ „
100 „ „ = 46,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,184 g NaOH.

Versuch 41.

Blut 2 Tage alt.

Reagensglas mit 125 ccm, Rückstand zweimal mit 125 ccm Wasser gewaschen.

1 ccm Blut + 1 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 1,8 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,16 „ „ „
100 „ „ = 16,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,064 g NaOH.

Versuch 42.

Reagensglas mit 250 ccm, Rückstand mit 250 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 3,6 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
2 ccm Blut = 0,32 „ „ „
100 „ „ = 16,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,064 g NaOH.

Versuch 43.

Reagensglas mit 250 ccm, Rückstand zweimal mit 125 ccm Wasser gewaschen.

1 ccm Blut + 1 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
erstes Filtrat = 1,4 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
zweites Filtrat = 0,4 „ „ „ (Rückstand zerrieben und gewaschen).

1 ccm Blut = 16,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,064 g NaOH.

Versuch 44.

Reagensglas mit 150 ccm, Rückstand zweimal mit 135 ccm Wasser gewaschen.

1 ccm Blut + 1 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
erstes Filtrat = 1,7 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
zweites Filtrat = 0,1 „ „ „ (Rückstand zerrieben und gewaschen).

1 ccm Blut = 0,16 „ „ „
100 „ „ = 16,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,064 g NaOH.

Versuch 45.

Reagensglas mit 250 ccm, Rückstand mit 200 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
erstes Filtrat = 3,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
zweites Filtrat = 0,4 „ „ „ (Rückstand zerrieben und gewaschen).

2 ccm Blut = 0,32 „ „ „
100 „ „ = 0,064 „ „ „
Alkalescenz = 0,064 g NaOH.

Versuch 46.

Blut 7 Tage alt.

Reagensglas mit 250 ccm, Rückstand mit 250 ccm Wasser gewaschen. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 19,4 ccm 10 Normal-Lauge.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
erstes Filtrat = 3,5 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
zweites Filtrat = 0,1 „ „ „
2 ccm Blut = 0,28 „ „ „
100 „ „ = 14,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,056 g NaOH.

Versuch 47.

Reagensglas mit 250 ccm, Rückstand mit 250 ccm Wasser gewaschen.

2 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
erstes Filtrat = 3,3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
zweites Filtrat = 0,2 „ „ „
2 ccm Blut = 0,38 „ „ „
100 „ „ = 19,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,076 g NaOH.

Versuch 48.

Frisches Blut.

Rückstand mit destilliertem Wasser bis zur Chlorfreiheit gewaschen.

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 17,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,4 „ „ „
100 „ „ = 48,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,192 g NaOH.

Versuch 49.

Rückstand bis zur Chlorfreiheit ausgewaschen.
Verarbeitet:

5 ccm Blut + 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 16,9 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,5 „ „ „
100 „ „ = 50,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Die Ergebnisse der vorstehend mitgeteilten 49 Versuche leiten uns zu folgenden Schlüssen:

1. Um sichere und konstante Werte zu erhalten, muss man den auf dem Filter zurückbleibenden Rückstand bis zur völligen Chlorfreiheit auswaschen, weil man dann, wie bereits erwähnt, annehmen darf, dass alles Alkali und alle „Säure", wie sie in Gestalt der Chlorzinklösung dem Blute zugesetzt wurde, sich im Filtrat befindet und auf dem Filter eine neutral reagierende Masse zurückbleibt.

An dieser Stelle sei noch Folgendes eingeschaltet: Ich begnügte mich nicht mit dem Nachweis, dass die ablaufende Flüssigkeit chlorfrei sei, sondern prüfte das Koagulum mehrere Male auf seinen Zinkgehalt. Zu dem Ende wurde das Koagulum von 25 resp. 50 ccm Blut vom Filter in einen Kjeldahl'schen Kolben gebracht, mit ca. 20 ccm der Schwefel-Phosphorsäure, wie sie bei der Kjeldahl'schen Stickstoffbestimmung ausgedehnte Anwendung findet, übergossen und über offener Flamme solange erhitzt, bis die organische Substanz vollkommen zerstört war. Den Kolbeninhalt verdünnte ich nach dem Erkalten mit destilliertem Wasser, filtrierte und prüfte das Filtrat auf Zink. Da das Eisen der Blutkörperchen mit in das Filtrat gegangen war, so fällte ich zunächst mit überschüssigem Ammoniak und Ammoniumchlorid, trennte den durch Ammoniak hervor-

gerufenen Niederschlag ab und versetzte das Filtrat mit einigen Tropfen starken Schwefelammoniums. Nach einiger Zeit entstand in der Flüssigkeit eine ganz leichte weisse Trübung. Nach der Stärke dieser weissen Trübung (ZnS) zu urteilen, ist jedoch die im Blutkoagulum zurückgebliebene Zinkmenge so minimal, dass man sie, ohne einen wesentlichen Fehler zu machen, ganz vernachlässigen kann.

2. Die Anwendung der Wasserstrahlpumpe zum Absaugen der Flüssigkeit ist nicht unbedingt erforderlich, sie beschleunigt jedoch die ganze Arbeit wesentlich. Hingegen hat sie der gewöhnlichen Filtration gegenüber den Nachteil, dass bei ihr eine grosse Menge atmosphärischer Luft mit der Oberfläche des Filtrats in Berührung kommt, wodurch eine nicht ganz gleichgiltige Verschiebung des Kohlensäuregehaltes der Flüssigkeit herbeigeführt werden kann.

3. Die Methode der Bluteneiweissung durch alkoholische Chlorzinklösung eignet sich ihrer Einfachheit wegen sehr zu alkalimetrischen Untersuchungen am Krankenbett. Man kann z. B. eine solche Alkalescenzbestimmung sehr bequem auf folgende Weise machen. Durch einen kleinen Einschnitt in ein Ohrläppchen oder einen Vorderarm lässt man Blut austreten, saugt mit einer 5 ccm fassenden, genau graduierten und durch eine Schraubenvorrichtung exakt zu handhabenden Spritze erst 1 ccm Blut auf, zieht dann 1 ccm der alkoholischen Zinkchloridlösung nach und schüttelt das Gemisch innerhalb der Spritze tüchtig durch. Darauf entleert man den Inhalt auf ein Filter, spült die Spritze mehrmals mit destilliertem Wasser aus, das man zu dem Koagulum auf dem Filter hinzugiesst, lässt filtrieren und wäscht mit destilliertem Wasser solange nach, bis man in einer Probe des ablaufenden Filtrats keine Chlorreaktion mehr erhält. Nun titriert man das Filtrat im Ganzen oder nur einen Bruchteil davon und rechnet den gefundenen Wert in Grammen NaOH

für 100 ccm Blut um. Die ganze Prozedur ist in $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden beendet.

4. Die gefundenen Werte stimmen, wie oben erwähnt, bis auf geringe Differenzen ganz gut mit einander überein. Im Interesse der Objektivität der Darstellung darf jedoch nicht verschwiegen werden, dass eine allerdings nur geringe Zahl von Alkalescenzbestimmungen Werte ergab, die ganz bedeutend von einander abwichen, obwohl unter genau denselben Bedingungen gearbeitet wurde. Wir haben früher bereits davon gesprochen, dass man zwei Ursachen für diese Differenzen annehmen könnte, einmal ein in der Methode selbst liegendes, nicht genau zu beherrschendes Moment und ferner irgend welche Ungenauigkeit beim Arbeiten, irgend einen experimentellen Fehler, der sich vermeiden liesse. Bei der grossen Anzahl übereinstimmender Resultate wird man vorläufig geneigt sein, die Differenzen einem experimentellen Fehler zuzuschreiben.

Um zu erfahren, ob die Resultate, zu denen die Chlorzinkmethode führt, auch als absolute Werte gelten können, habe ich die Alkalescenz des Blutes noch auf drei andere Arten bestimmt. Bei diesen Bestimmungen kamen zur Anwendung:

1. Verdünnung des Blutes mit destilliertem Wasser im Verhältnis von 1 : 100;

2. Verdünnung des Blutes mit destilliertem Wasser und $^1/_{10}$ Normal-Säure;

3. Enteiweissung des Blutes durch Alkohol.

1. Die Untersuchung des lackfarbenen Blutes.

Wie in dem geschichtlichen Überblick über die Entwicklung der Alkalimetrie angegeben, war von A. Loewy

zum ersten Male versucht worden, lackfarbenes Blut zur Titration zu verwenden. Loewy machte das Blut durch Zusatz von Glyzerin oder Eiswasser lackfarben. In unserem Falle wurde destilliertes Wasser von Zimmertemperatur benutzt, und zwar zeigte sich besonders geeignet eine Verdünnung des Blutes mit Wasser im Verhältnis 1 : 100.

Es wurden gewöhnlich 5 ccm Blut mit destilliertem Wasser auf 500 ccm aufgefüllt und 10 ccm dieser Mischung, also 0,1 ccm Blut analysiert. Der Bequemlichkeit halber wurden die 10 ccm in ein Reagensglas gefüllt und in demselben titriert. Jenachdem ich hierbei erst Lauge und dann Säure zusetzte, oder umgekehrt, oder erst erhitzte und dann Säure oder Lauge zufügte u. s. w., gestaltete sich der Verlauf der Titration verschieden, wenngleich ich stets dieselben Resultate erhielt.

Setzte ich zu den 10 ccm der Mischung von Blut und Wasser 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Säure hinzu, so wurde die gelbrote Farbe der Flüssigkeit fast rein hellgelb; nach Hinzufügen von 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge trat in der nun $^1/_{10}$ N.-Säure und $^1/_{10}$ N.-Lauge zu gleichen Teilen enthaltenden Flüssigkeit eine starke Trübung auf, welche unter gleichzeitigem Hellwerden der ganzen Mischung zum Teil verschwand, wenn man stark erhitzte. Lässt man jetzt einige Tropfen Phenolphtalein zufliessen, so sieht man, dass die Flüssigkeit sauer reagiert, erst nach weiterem Zusatz von 0,2 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge wird die Reaktion neutral, und damit verschwindet die Trübung fast ganz. Es sind also durch 0,1 ccm Blut 0,2 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge neutralisiert worden, d. h. durch 100 ccm Blut 200 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge = 0,800 g NaOH, entsprechend 0,980 g H_2SO_4.

Fügt man nun umgekehrt statt der Säure erst 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge zu den 10 ccm wässeriger Blutlösung, so ändert sich die Farbe nicht, und erst nach Zusatz von

1 ccm $^1/_{10}$ N.-Säure tritt wieder die vorerwähnte Trübung auf, die aber jetzt beim Erhitzen unverändert bleibt. Nach tropfenweisem Zufügen von $^1/_{10}$ N.-Lauge löst sich die Trübung allmählich, um bei 0,2 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge ganz zu verschwinden. Gleichzeitig damit ist auch die Neutralitätsgrenze erreicht.

Erhitzt man die wässerige Blutlösung, so wird sie missfarbig und vollkommen trübe und undurchsichtig, nimmt aber nach Zusatz von 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge eine ganz klare Beschaffenheit an und zeigt eine deutlich hellgrüne Farbe. Fügt man nun Phenolphtalein und Tropfen für Tropfen $^1/_{10}$ N.-Säure hinzu, so tritt, wenn 0,8 ccm Säure zugeflossen sind, der Umschlag in die neutrale Reaktion ein.

Lässt man, nachdem das verdünnte Blut erhitzt ist und die erwähnten Umwandlungen erfahren hat, an Stelle der Lauge 1 ccm N.-Säure hinzufliessen, so bleibt bei gleichzeitigem Hellerwerden der Flüssigkeit nur eine ganz geringe Trübung bestehen, die verschwindet, wenn der Flüssigkeit 1,2 ccm N.-Lauge zugesetzt werden.

Bei allen Versuchen, die auf diese Weise ausgeführt wurden, ergaben sich zwar gut übereinstimmende Resultate, jedoch stellte sich erstaunlicher Weise heraus, dass das Blut sauer reagierte, in Übereinstimmung mit den Befunden von Maly, im Gegensatz zu den Resultaten, die ich mit der Chlorzinkmethode erhalten hatte. Loewy fand bei seinen Titrationen lackfarbenes Blut stets alkalisch. Die Erklärung für die unter den oben erwähnten Versuchsbedingungen nachgewiesene saure Reaktion dürfte wohl darin liegen, dass das destillierte Wasser vermöge seines Kohlensäuregehaltes auf das Phenolphtalein wie eine Säure gewirkt hat.

2. Untersuchung des mit Säure und destilliertem Wasser verdünnten Blutes.

Die ersten derartigen Versuche wurden so ausgeführt, dass eine Mischung von 10 ccm Blut mit 8 ccm $^1/_{10}$ N.-Schwefelsäure und 62 ccm Wasser zur Verarbeitung gelangte. Diese Flüssigkeit, 80 ccm, wurde in einem Kolben über offener Flamme erhitzt, bis das Eiweiss vollkommen koagulierte, und die nunmehr dickflüssige, zum Teil geronnene Masse auf das Filter geworfen. Hierbei trat schon ein misslicher Umstand zu Tage, der nicht gerade zur Empfehlung dieses Verfahrens beiträgt: es ging nämlich ein grosser Teil des Blutfarbstoffes mit durch das Filter und verlieh dem Filtrat eine dunkelgelbrote Farbe, welche auf die Brauchbarkeit der Indikatoren, in unserem Falle des Phenolphtaleins, sehr störend einwirkte. Nichtsdestoweniger gelang es doch, mit einiger Sicherheit den Übergang der roten Farbe in die weisse oder umgekehrt zu erkennen und die Stärke der alkalischen bezw. sauren Reaktion zu messen. Bei den drei Versuchen, die zu gleicher Zeit und mit demselben Blute unter gleichen Bedingungen angestellt wurden, bedurften 10 ccm des Filtrates zu ihrer Neutralisation stets 0,3 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge. Da nun die Versuchsanordnung in allen drei Fällen so getroffen war, dass 10 ccm des Filtrates dem achten Teil der Gesamtflüssigkeit entsprachen, so waren in diesen 10 ccm Filtrat 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Säure und 1,25 ccm Blut, d. h. die löslichen Bestandteile von 1,25 ccm Blut enthalten. Zur Neutralisation von 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Säure allein würde 1 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge erforderlich gewesen sein, infolge der Gegenwart des alkalisch reagierenden Blutes waren nur 0,3 ccm Lauge nötig. Mithin haben 1,25 ccm Blut 0,7 ccm $^1/_{10}$ N.-Säure neutralisiert, oder 1,25 ccm Blut sind in ihrer Wirkung gleich 0,7 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge. Für

100 ccm Blut und in Grammen NaOH umgerechnet, ergiebt dies einen Alkalescenzwert von 0,224 g NaOH.

Die bei allen drei Versuchen genau übereinstimmenden Werte liegen innerhalb der Grenzen derjenigen Werte, welche ich durch die Chlorzink-Methode gewonnen habe. Leider sind an demselben Tage, an dem diese drei Alkalescenzbestimmungen gemacht wurden, keine Versuche mit der Chlorzinkmethode zur Kontrolle angesetzt worden. Erst am Tage darauf war diese Kontrolle möglich, wobei sich freilich ein Alkalescenzwert von 0,124 g NaOH und von 0,132 g NaOH für 100 ccm Blut ergab. Aber diese Werte können zur Beurteilung der Werte vom vorhergehenden Tage nicht mehr herangezogen werden, da frisches Blut in 24 Stunden beträchtlich an Alkalescenz verliert. Weitere Versuche mit der Blut-Säure-Wassermischung habe ich vorläufig nicht angestellt, da ich hoffte, durch das sogleich näher zu besprechende Verfahren der Enteiweissung des Blutes mit Hilfe von Alkohol eine Methode in die Hand zu bekommen, die sich besser zur Kontrollierung des Chlorzinkverfahrens eignete.

3. Untersuchung des durch Alkohol enteiweissten Blutes.

Im Jahre 1892 berichtete H. J. Hamburger in du Bois Reymond's Archiv über ein Verfahren, mit dem er die Alkalescenz des Blutserums prüfen wollte. Er fällte das Eiweiss des Serums und benutzte hiezu nach mancherlei Vorproben reinen starken Alkohol. Ohne diese Arbeit näher zu kennen, hatte ich bereits mehrere ähnliche Versuche angestellt, welche, wie die unter 1 und 2 aufgeführten, dazu dienen sollten, die Zuverlässigkeit oder die etwaigen Mängel des Chlorzinkverfahrens darzuthun.

Es wurden gewöhnlich mehrere Versuche gleichzeitig ausgeführt, immer mit 5 ccm Blut, während die Quantität

des zugesetzten Alkohols wechselte. Als geeignetstes Gefäss erwies sich ein Kolben, in dem man Blut und Alkohol gut durcheinanderschütteln und nötigenfalles auch erwärmen konnte. Die drei ersten so ausgeführten Versuche nun ergaben folgende Resultate.

Versuch 1.

Frisches Rinderblut.

10 ccm Alkohol von 96% brauchen 0,7 ccm $^1/_{10}$ N-Lauge, bis Phenolphtalein Rotfärbung zeigt.

Verarbeitet:

5 ccm Blut + 10 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,2 „ $^1/_{10}$ Lauge.
demnach 5 ccm Blut = 0,5 „ „ „
100 „ „ = 10,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,040 g NaOH.

Versuch 2.

5 ccm Blut + 20 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,3 „ $^1/_{10}$ Lauge.
demnach 5 ccm Blut = 1,1 ccm $^1/_{10}$ Lauge.
100 „ „ = 22,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,088 g NaOH.

Versuch 3.

5 ccm Blut + 30 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,6 „ $^1/_{10}$ Lauge.
demnach 5 ccm Blut = 1.5 „ „ „
100 „ „ = 30,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,120 g NaOH.

Das Verfahren, die Blutproben mit wechselnden Mengen Alkohol zum Zweck der Enteiweissung zu versetzen, sie 24 Stunden stehen zu lassen, dann auf das Filter zu werfen,

den Rückstand mit destilliertem Wasser auszuwaschen und endlich das Filtrat durch Titration auf die Stärke seiner Alkalescenz resp. Acidität zu prüfen, führte, wie sich aus den drei mitgeteilten Bestimmungen erkennen lässt, zu ganz eigentümlichen, nicht leicht zu erklärenden Resultaten. Die Alkalescenz des Blutes lag um so höher, je grösser die Menge des zur Enteiweissung verwendeten Alkohols war, und zwar wuchs die Alkalescenz für je 10 ccm Alkohol um ungefähr 40 mg NaOH.

Da vorher festgestellt war, dass der Alkohol sauer reagierte — 10 ccm Alkohol = 0,7 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge —, so lag die Vermutung nahe, dass die im Alkohol vorhandene Säure während der Dauer von 24 Stunden einen Einfluss auf das Titrationsergebnis insofern ausübe, als sie vielleicht ein Änderung der chemischen Zusammensetzung des Bluteiweisses bedingt.

Es wurden daher neue Versuche angesetzt, bei denen ich wiederum 5 ccm Blut mit verschieden grossen Mengen Alkohol mischte, aber nicht 24 Stunden mit der Titration wartete, sondern sogleich filtrierte und das Filtrat prüfte. Aber auch so brachten die erhaltenen Resultate keine Aufklärung über die Differenz der früheren Werte, sie trugen im Gegenteil nur dazu bei, die Sache noch verwickelter zu machen.

Versuch 4.

5 ccm Blut + 10 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,2 „ $^1/_{10}$ Lauge
demnach 5 ccm Blut = 0,5 „ „ „
100 „ „ = 10,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,040 g NaOH.

Versuch 5.

5 ccm Blut + 20 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,4 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge
demnach 5 ccm Blut = 1,0 „ „ „
100 „ „ = 20,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,080 g NaOH.

Versuch 6.

5 ccm Blut + 30 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,9 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
demnach 5 ccm Blut = 1,2 „ „ „
100 „ „ = 24,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,096 g NaOH.

Neue Versuche, bei denen ich 5 ccm Blut mit dem vier- und sechsfachen Volumen Alkohol mischte und das Gemisch sofort auf 50° C. erwärmte, gaben gleichfalls nicht die gewünschte Aufklärung.

Versuch 7.

Blut 1 Tag alt.
5 ccm Blut + 20 ccm Alkohol auf 50° C. erwärmt.
Filtrat = 0,0 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
demnach 5 ccm Blut = 0,5 „ „ „
100 „ „ = 10,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,040 g NaOH.

Versuch 8.

Blut 1 Tag alt.
5 ccm Blut + 30 ccm Alkohol.
Filtrat auf 50° C. erwärmt = 1,4 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge
demnach 5 ccm Blut = 0,7 „ „ „
100 „ „ = 14,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,056 g NaOH.

Endlich versuchte ich es mit Alkohol, der zuvor mit $^1/_{10}$ N.-Lauge neutralisiert war. Die Differenzen blieben gleichwohl bestehen.

Versuch 9.

Blut 1 Tag alt.

5 ccm Blut + 10 ccm Alkohol.
Filtrat = 0,5 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 0,5 „ „ „
100 „ „ = 10,0 „ „ „
Alkohol zuvor neutralisiert durch 0,5 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
Alkalescenz = 0,040 g NaOH.

Versuch 10.

5 ccm Blut + 30 ccm Alkohol.
Alkohol zuvor neutralisiert durch 2,2 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
Filtrat = 0,8 „ „ „
5 ccm Blut = 0,8 „ „ „
100 „ „ = 16,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,064 g NaOH.

Wie aus den angeführten Zahlen ersichtlich, ist der Alkohol in beiden Fällen nicht gleich stark sauer; bei Versuch 9 bedurften 10 ccm Alkohol zur Neutralisation 0,5 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge, bei Versuch 10 aber 30 ccm Alkohol statt 1,5 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge deren 2,2 ccm. Weiterhin angestellte Titrationen von verschiedenen Mengen Alkohol ergaben ebenfalls eine nicht zu erklärende Differenz in der Acidität der titrierten Proben.

Ohne irgend eine Aufklärung darüber erhalten zu haben, ob die Chlorzinkmethode wirklich brauchbare, d. h. absolute Werte ergebe — nur die Verdünnung des Blutes mit Säure und destilliertem Wasser scheint dafür zu sprechen — stellte

ich nochmals eine Reihe von Versuchen an, deren Ausführung der früher angegebenen ganz analog war. Besonders veranlasst wurde ich zu dieser Wiederaufnahme der Chlorzinkversuche dadurch, dass gerade die Methode der Bluteiweissung mittelst Alkohols, auf welche ich grosse Hoffnungen gesetzt hatte, völlig im Stiche liess.

Die neuerdings mit dem Chlorzinkverfahren erhaltenen Werte stimmten auffallenderweise fast stets ganz genau mit einander überein. Ich sage „auffallenderweise", denn es war gar nicht einzusehen, warum dieses Mal eine beinahe vollkommene Übereinstimmung der Resultate erreicht wurde, während eine solche bei den früheren, oben mitgeteilten Versuchen nur selten erzielt werden konnte.

Eine kleine Abänderung des Verfahrens sei hier noch erwähnt, ehe ich die Versuche mit ihren Resultaten wiedergebe. Anstatt nämlich, wie frühher, das Filtrat auf seinen Chlorgehalt zu prüfen, untersuchte ich es nunmehr auf seine Reaktion, indem ich den Versuch abbrach, wenn die abfiltrierende Flüssigkeit neutral reagierte. Im übrigen war die Versuchsanordnung in allen gleich zu schildernden Fällen ganz die gleiche. Es wurde stets mit der Pumpe gearbeitet, stets die Reaktion des Filtrats geprüft und stets mit c. 200 ccm destillierten Wassers nachgespült.

Die Versuche selbst sind nun folgende:

Versuch 50.

d. 4. VII. 95. Blut von 3. Juli 95. 10 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 20,4 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.

5 ccm Blut + 5 „ $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,2 „ „ „
100 ccm Blut = 44,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,176 g NaOH.

Versuch 51.

Blut von 3. VII. 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,2 „ „ „
100 „ „ = 14,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,176 g NaOH.

Versuch 52.

Blut von 3. VII. 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,2 „ „ „
100 „ „ = 44,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,176 g NaOH.

Versuch 53.

d. 5. VII. 05. Blut von 3. Juli 95.
5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,2 „ „ „
100 „ „ = 44,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,176 g NaOH.

Versuch 54.

Blut vom 3 Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,2 „ „ „
100 „ „ = 44.0 „ „ „
Alkalescenz = 0,176 g NaOH.

Versuch 55.

Blut vom 3. Juli 95.

1 ccm Blut + 1 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 1,6 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 44,03 „ „ „
Alkalescenz = 0,161 g NaOH.

(Anmerk.: Das Resultat ist zu klein, da die Bestimmung nicht ganz einwandsfrei zu Ende geführt werden konnte).

Versuch 56.

d. 6. VII. 95. Blut vom 3. Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,0 ccm „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 57.

Blut vom 3. Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,0 „ „ „
100 „ Blut = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 58.

Blut vom 3. Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 1,9 „ „ „
100 ccm Blut = 38,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,152 g NaOH.

Versuch 59.

d. 8. VII. 95. Blut vom 3. Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,0 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 60.

Blut vom 3. Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 20 „ „ „
100 ccm Blut = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 61.

Blut vom 3. Juli 95.

5 ccm Blut + 5 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 8,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
5 ccm Blut = 2,0 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Die nunmehr folgenden Versuche erfuhren insofern eine Abänderung, als das Blut und die Chlorzinklösung nicht mehr gesondert und mit Hilfe von Pipetten aufgesaugt wurden, sondern mit einer Spritze von c. 75 ccm Inhalt, deren Stempel graduiert war, dem Gefäss entnommen wurden. Genauer dargestellt war das Verfahren folgendes: Das Blut wurde zunächst in ein kleines, das Aufsaugen erleichterndes Bechergläschen gegossen. Darauf saugte man mit der Spritze, 1 ccm Blut und hinterher aus einem bereit gestellten Gläschen

die gleiche Quantität der Zinkchloridlösung auf, schüttelte beide Flüssigkeiten in der Spritze gehörig durcheinander und entleerte das Koagulum auf ein Filter. Die nun folgenden Operationen waren genau dieselben wie bei den früheren Versuchen.

Versuch 62.

d. 10. VII. 95. Blut von 9. Juli 95.

2 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 4,8 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.

1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 4,3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.

1 ccm Blut = 0,5 „ „ „

100 „ „ = 50,0 „ „ „

Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 63.

Blut vom 9. Juli 95.

1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 4,3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.

1 ccm Blut = 0,5 „ „ „

100 „ „ = 50,0 „ „ „

Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 64.

Blut vom 0. Juli 95.

1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 4,3 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.

1 ccm Blut = 0,5 „ „ „

100 ccm Blut = 50,0 „ „ „

Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 65.

Blut vom 9. Juli 95.

2 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 4,7 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.

1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$
Filtrat = 4,2 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,5 „ „ „
100 „ „ = 50,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 66.

Blut vom 9. Juli 95.

1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 4,2 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,5 „ „ „
100 „ „ = 50,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,200 g NaOH.

Versuch 67.

d. 11. VII. 95. Blut vom 10. Juli 95.
2 ccm $ZnCl_2$-Lösung verlangen 4,4 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 4,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge,
1 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 68.

Blut vom 10. Juli 95.

1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 4,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 69.

Blut vom 10. Juli 95.
1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.

Filtrat = 4,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 66.

Blut vom 10. Juli 95.
1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 4,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Versuch 67.

Blut vom 10. Juli 95.
1 ccm Blut + 2 ccm $ZnCl_2$-Lösung.
Filtrat = 4,0 „ $^1/_{10}$ N.-Lauge.
1 ccm Blut = 0,4 „ „ „
100 „ „ = 40,0 „ „ „
Alkalescenz = 0,160 g NaOH.

Wie aus den zuletzt mitgeteilten 22 Versuchen ersichtlich, stimmen deren Resultate völlig überein.

Es bleibt nach alledem nur übrig, die Differenzen, die sich bei den früheren Experimenten ergeben haben, auf irgend einen, nicht der Methode an sich zukommenden Fehler zurückzuführen, der sich während des Arbeitens eingeschlichen haben muss.

Auf Grund dieser letzteren Überlegung glaube ich nunmehr zu der Annahme berechtigt zu sein, dass die Chlorzinkmethode ebenso genaue und zuverlässige Resultate liefert, wie die übrigen bisher bekannt gewordenen Methoden der Alkalescenzbestimmung.

Ich hatte weiterhin noch die Absicht, das Chlorzinkverfahren am lebenden Tiere zu erproben und womöglich auch

am Menschen Alkalescenzbestimmungen zu machen. Leider war es mir durch die Ungunst der Verhältnisse, insbesondere infolge mangels an Zeit nicht möglich, mich eingehender mit diesen Versuchen zu beschäftigen, die gewissermassen eine Probe auf das Exempel darstellen sollten.

Ich war nur in der Lage einige wenige Alkalescenzbestimmungen an lebenden Tieren zu machen, so z. B. an Hunden, Kaninchen, Mäusen und Fröschen. Ich nehme jedoch Abstand davon, diese hier mitzuteilen, da bei denselben eine technische Schwierigkeit zu Tage trat, die ich nicht in befriedigender Weise überwunden habe. Um das Verfahren möglichst sicher und fehlerfrei zu gestalten, hielt ich es für zweckmässig, das Blut dem Körper direkt mit der Spritze zu entziehen. Die Spritze wurde mit der Stechkanüle armiert und in eine passende Vene eingestochen. Manchmal gelang die Entziehung des erforderlichen Blutquantums, oft aber verstopfte sich die Kanüle durch Blutgerinnsel, oder es trat, wenn die Blutentnahme gelungen war, in der Stechkanüle Gerinnung ein, sobald die Chlorzinklösung aufgesaugt wurde. Kurzum, der Schwierigkeiten, die aus der Verwendung einer Stechkanüle erwuchsen, bin ich nicht völlig Herr geworden. Man kann diese Schwierigkeiten dadurch umgehen, dass man das Blut aus einer kleinen Schnittwunde mit Hilfe einer Spritze mit kurzem weitem Rohransatz entnimmt. Die direkte Entnahme aus einer Vene würde aber, abgesehen von der geringeren Verletzung des Tieres resp. des Patienten, den Vorzug haben, dass die Blutprobe fast gar nicht mit Luft in Berührung kommt.

Für den Fall, dass diese rein technische Frage der Blutentziehung eine befriedigende Lösung finden sollte, nehme ich keinen Anstand, die Chlorzinkmethode als für klinische Zwecke geeignet zu empfehlen.

Am Schluss meiner Arbeit angelangt, ist es mir eine angenehme Pflicht Herrn Prof. Dr. J. Rosenthal meinen verbindlichsten Dank dafür auszusprechen, dass er die Ausführung des experimentellen Teiles dieser Arbeit im physiologischen Institut gütigst gestattet hat. Zu ganz besonderem Dank verpflichtet bin ich dem I. Assistenten des physiologischen Institutes Herrn Dr. O. Schulz, der mich auf die Arbeit aufmerksam machte und mir bei deren Ausführung stets in liebenswürdigster Weise mit Rat und That zur Seite gestanden hat.